耐辐射异常球菌 IrrE 表达与简单节杆菌有机溶剂耐受性的关系及其调控机制研究

宋博 薛海洁 程洪金 骆健美* 申雁冰 王敏

工业发酵微生物教育部重点实验室，天津市工业微生物重点实验室，天津科技大学生物工程学院，天津 300457

甾体激素类药物是目前临床上用量仅次于抗生素的第二大类药物。甾体化合物 C1,2 脱氢反应是工业上采用微生物转化法生产甾体药物的典型代表。其中，简单节杆菌（*Arthrobacter simplex*）以专一性高、反应速率快等优点已成为工业生产中普遍使用的微生物菌株。同时转化反应多是采用添加有机溶剂的方法（一般是乙醇，浓度为 4%）促进疏水性底物的溶解，但有机溶剂的用量会对微生物造成不利影响而受到严格控制，这大大限制了转化体系中底物的投料量，最终影响产率。为了突破这一瓶颈，迫切的需要构建适用于工业化应用的高有机溶剂耐性的微生物菌株。

本论文将来源于耐辐射异常球菌的全局转录因子 IrrE 导入简单节杆菌，结果发现，IrrE 表达对菌株的生长代谢及催化酶活力无明显影响，但却显著增强了菌株的有机溶剂耐受性，进而提高其在高浓度有机溶剂和底物转化体系中的生产效率；通过一般胁迫响应相关代谢物含量、关键酶酶活和相关基因转录水平的分析，阐述 IrrE 表达提高简单节杆菌有机溶剂耐受性能的调控机制；利用启动子工程得到简单节杆菌 IrrE 差异表达菌株，进一步揭示 IrrE 表达水平对菌株有机溶剂耐受性的影响，结果发现，随着 IrrE 表达水平的提高，菌株表现出更好的耐受性。最后对优良启动子突变体介导的 IrrE 表达菌株 PM588 的甾体 C1,2 脱氢反应能力进行评价，发现该菌株在 70 g/L 的底物醋酸可的松和 10%浓度乙醇的转化体系中的醋酸泼尼松生成量达到了 20.3 g/L，比原始启动子介导的 IrrE 表达菌株（12.5 g/L）提高了 62.4%，而此条件下含有空质粒的对照菌株已无明显的转化能力。该研究成果为构建高效甾体转化菌株提供新策略，对于完善 IrrE 在逆境中对宿主的全局调控机制具有重要的科学意义。

致谢：国家自然科学基金项目（21306138、21646017），天津市应用基础与前沿技术研究计划（自然科学基金（13JCYBJC20600））。

*通信作者：骆健美，女，出生于 1978 年 5 月，博士，天津科技大学生物工程学院教授。主要从事具有重要工业、医药和环境应用价值的微生物菌种筛选和改良，胁迫耐受性微生物的选育、生理机制研究及具有抗逆性能菌种的创建和应用等研究。E-mail：luojianmei@tust.edu.cn.

第一作者：宋博，男，生于 1992 年 7 月，天津科技大学生物工程学院在读硕士生。主要从事甾体激素高效转化菌株的创建和应用等研究。E-mail：15028259109@163.com.